

Professeur RYBAK

L'IMMUNITÉ DANS LE CANCER DES PLANTES

Extrait de la *Revue de Pathologie Générale et de Physiologie Clinique*
N° 748, mai 1963, p. 581 à 589

PACOMHY
Editeur, Paris

1963

L'immunité dans le cancer des plantes

par

le Professeur RYBAK

Le cancer des Plantes ou « Crown-gall » (Galle de la couronne) est une maladie tumorale provoquée par un agent bactérien *Agrobacterium tumefaciens* découvert par E.-F. SMITH (1907) et qui n'affecte que les Dicotylédones, ce qui montre déjà l'existence d'une immunité naturelle envers cette bactérie chez les Monocotylédones.

Après inoculation de la bactérie virulente, une tumeur primaire se développe donc chez les Dicotylédones au niveau des points d'inoculation. Chez certaines plantes, comme l'*Helianthus annuus*, il peut se développer à distance des tumeurs secondaires, bactériologiquement stériles ; ceci indique donc qu'il existe une capacité différente de réactions chez les Dicotylédones mêmes ; en conséquence, par exemple chez les *Pelargonium*, qu'il n'y ait que tumorigénisation primaire montre en quelque sorte l'existence chez cette plante d'une immunité naturelle à la *propagation* tumorale. On peut aventurer que sous le qualificatif de cancer on groupe des maladies tumorales malignes d'origine infectieuse dont le pouvoir infectieux serait faible de telle sorte que, en définitive, l'immunité naturelle envers les cancers serait largement répandue et que ce ne serait que pour des causes accidentelles modifiant le « terrain » que le virus, génériquement parlant, pourrait s'implanter (origine exogène) ou révéler sa virulence mitogénétique (origine endogène).

Quoi qu'il en soit de l'étiologie du cancer et du « Crown-gall » en particulier, mon propos est de montrer en quoi se développe une immunité acquise et par quel mécanisme elle opère.

ARNAUDI (1925) a découvert que, de part et d'autre d'une tumeur caulinaire de *Pelargonium zonale*, toute réinoculation de l'agent bactérien pathogène avorte ; ceci caractérise un phénomène d'immunité à la réinfection.

J'ai pu démontrer (1946-1954) que dans un tel phénomène il n'est pas possible de mettre en évidence d'anticorps et que les réactions d'agglutination d'*Agrobacterium tumefaciens* — ou de précipitation d'extraits de cette bactérie — par les sucres de *Pelargonium zonale* étaient soit la conséquence d'une combinaison avec les tanins de la plante soit l'expression d'une culture en amas des bactéries. Les preuves de l'absence d'anticorps de type zoo-immunitaire ont été apportées par quatre types d'expériences de caractère physico-chimique, à savoir :

1. Etude par dialyse ;
2. Etude thermique ;
3. Etude par « salting-out » ;
4. Examen de l'acido-labilité ;

Ces recherches ont montré que le pouvoir agglutinant des sucres sains ou tumoraux de *Pelargonium zonale* se perdait par dialyse et que, parallèlement, des composés phénolés étaient éliminés. De plus le pouvoir agglutinant se conservait même après traitement à l'autoclave à 110° C pendant vingt minutes. Le relargage ammoniacal livre un flocculum renfermant des protéines associées à des tanins ce qui empêche, sur le plan expérimental, de conclure, mais on remarquera que le relargage ammoniacal de sucres tumoraux de plantes dépourvues de tanins, ou pauvres en tanins, livre bien un flocculum protéique, mais celui-ci n'est doué d'aucun pouvoir agglutinant typique envers l'*Agrobacterium tumefaciens*.

Quant à l'action des acides elle montre que le pouvoir agglutinant des sucres de *Pelargonium zonale* n'est pas détruit sensiblement lorsque de l'acide sulfurique ou de l'acide chlorhydrique N/10 sert à l'extraction tissulaire.

Ces faits ont été confirmés notamment dans les thèses de MASSIGNON (1951) et de BÉNÉ (1958). Ainsi, dans ce cas précis où nous avons à faire à un être vivant poïkilothermique, aux réactions anti-infectieuses non spécialisées, l'immunité acquise est caractérisée notamment — comme il en va d'ailleurs chez les animaux poïkilothermes — par une incapacité à produire des anticorps.

Toutefois on doit se demander si l'immunité dans ce cas n'est pas une immunité de tissus à bactéries ou une immunité de tissus à tissus, c'est-à-dire en l'occurrence une immunité : tissus sains connexes à la tumeur par rapport au tissu tumo-

ral. En effet dans une tumeur primaire, les bactéries ne se localisent qu'à la périphérie de la tumeur. J'ai donc mis en contact des sucs de tumeur et des sucs de tiges saines de cette plante ; or un précipité se manifeste dans ces conditions qui pourrait être un précipité de type immunitaire ; cependant l'étude chimique montre qu'il s'agit, la plupart du temps, d'un précipité d'oxalate de calcium et, dans certains cas (en hiver), d'un précipité constitué par un complexe protéines-tanins.

De plus la dialyse préalable des sucs contre de l'eau distillée rend la réaction régulièrement négative ce qui doit être attribué à la dialysabilité de l'oxalate, des sels solubles de calcium ou de l'acide géraniatannique.

Ces expériences chimiques m'ont conduit à penser que, quoi qu'il en soit des réactions antigènes-anticorps entre tissus, il devait y avoir des *corrélations métaboliques*, donc chimiques. entre le tissu tumoral qui est en voie de prolifération intense et le tissu apparemment sain connexe à cette tumeur. Les dosages d'azote total et de tanins totaux ont permis d'établir des relations remarquables dont le tableau ci-dessous fait état :

Régions analysées	% N Total	Rapport % Tanins totaux Azote total
Parties jeunes	1,58	$\frac{10}{1,58} = 6,3$
Parties âgées (près du collet).....	0,93	$\frac{8,8}{0,93} = 9,4$
Parties saines sur 5 cm de part et d'autre de tumeur.....	0,74	$\frac{18,0}{0,74} = 24,3$
Parties tumorales	1,52	$\frac{20}{1,52} = 13,1$

On constate que ce sont les tissus résistant aux réinoculation d'*Agrobacterium tumefaciens* virulent qui ont l'indice Tanins totaux

le plus élevé.

Azote total

J'ai été ainsi amené à parler d'*immunité par défaut*, car l'azote total représentant d'une part la quantité de substances azotées nutritives et d'autre part la quantité de substance fondamentale des cellules, cette déficience en azote des régions résistantes rend la tumorigénèse difficile et d'autant plus que la teneur relativement élevée en tanins favorise la cicatrisation des points d'inoculation.

En somme il s'agit d'une résistance acquise par un véritable phénomène de « terre brûlée », la tumeur se trouve littéralement en culture, sur le rameau, et les exigences métaboliques correspondant à l'intense prolifération tumorale sont telles que les tissus voisins se trouvent carencés en métabolites et, comparativement, enrichis en facteurs de cicatrisation.

Le « Crown-gall » est un parasite en soi, et l'immunité qui se développe chez le *Pelargonium zonale* est une immunité anti-crown-gall (anti-tumeur), et non une immunité anti-*Agrobacterium tumefaciens*, parasite primaire, tumorigène mais comme A.-C. BRAUN l'a montré, très rapidement non indispensable pour l'évolution ultérieure de la tumeur.

Cette immunité revêt ainsi des caractères d'ordre essentiellement trophiques, encore qu'elle puisse être accessoirement associée, au développement d'un bactériophage anti-tumefaciens, découvert par d'HÉRELLE et PEYRE (1927), et dont l'existence a été confirmée par de nombreux auteurs dont nous-même (RYBAK, LÉPINE et CROISSANT ; 1948) et BEARDSLEY (1955).

BIBLIOGRAPHIE

- ARNAUDI (C). — Sull'immunità acquisita nei vegetali. *Atti. Soc. Ital. Sci. Nat.*, Milano (1925), 64, 230.
- BEARDSLEY (L.E.). — Phage production by Crown-gall Bacteria and the formation of plant tumors. *The American Naturalist* (1955), 89, 846.
- BRAUN (A.C.). — Thermal Studies on the factors responsible for tumor initiation in Crown-gall. *American J. Botany* (1947), 34, 234.
- BENE (R). — Contribution à l'étude de la maladie tumorale chez les végétaux. *Thèse Sciences, Nancy* (1958).
- BRAUN et WHITE (P.R.). — Bacteriological sterility of Tissues derived from secondary Crown-gall tumors. *Phytopat* (1943), 33, 85.
- HERELLE (F. d') et PEYRE (E.). — Contribution à l'étude des tumeurs expérimentales. *C.R. Ac. Sc.* (1927), 18, 227.
- MAGROU (J.). — Contribution à l'étude de l'immunité tumorale chez les plantes. *Annales Institut Pasteur* (1938), 60, 565.
- MASSIGNON (C.). — Contribution à l'étude des phénomènes immunitaires chez les végétaux. *Thèse Faculté de Pharmacie, Nancy* (1951).
- RYBAK (B.). — L'immunité dans le Crown-gall. *Annales Institut Pasteur* (1948), 752, 351.

RYBAK (B.). — L'immunité acquise dans le Crown-gall, avec une lettre-préface de C. ARNAUDI. *Rev. belge Path. et Méd. exp.* (1954), 23, 56 pp.

RYBAK (B.). — L'immunité dans le Crown-Gall. II. Précisions et mécanisme fondamental. *Annales Inst. Pasteur* (1949), 77, 688.

RYBAK (B.) et HIRTH (L.). — Semi-microdosages des tanins galliques. Applications au *Pelargonium* sain et tumoral (Crown-gall). Extractions et dosages. *Bulletin Soc. Chim.-Biol.* (1949), 31, 1092.

RYBAK (B.), LEPINE (P.) et CROISSANT (O.). — Conditions biochimiques de multiplication d'un bactériophage. Mise en évidence par la microscopie électronique. *C.R. Ac. Sc.* (1948), 227, 238.

SMITH (E.F.). — Bacteria in relation to plant diseases. Carnegie Institution. Washington (1911).

RESUME

Le cancer des Plantes ou « Crown-gall » (galle de la couronne) est une maladie tumorale provoquée par un agent bactérien : *Agrobacterium tumefaciens*, découvert par E.F. SMITH (1905) et qui n'affecte que les Dicotylédones, ce qui montre l'existence d'une immunité naturelle chez les Monocotylédones. ARNAUDI (1925) a découvert que, de pari et d'autre d'une tumeur caulinaire de *Pelargonium zonale*, des réinoculations de l'agent bactérien pathogène avortent, ce qui caractérise un phénomène d'immunité à la réinfection. J'ai pu démontrer (1946-1954) que dans un tel phénomène il n'est pas possible de mettre en évidence d'anticorps et que les réactions d'agglutination d'*Agrobacterium tumefaciens* ou de précipitation de ses extraits par les sucs de *Pelargonium zonale* étaient dues essentiellement 1°) aux tanins de la Plante 2°) à la formation d'amas bactériens de culture. Ces faits ont été confirmés notamment dans les Thèses de MASSIGNON (1951) et de BÉNÉ (1958). Ainsi, dans ce cas précis où nous avons affaire à un être vivant poïkilothermique aux réactions anti-infectieuses non spécialisées, l'immunité est caractérisée notamment — comme chez lse animaux poïkilothermes — par une incapacité à produire des anticorps. En fait l'immunité acquise dans le « Crown-gall » s'exprime par un phénomène de « terre brûlée » : ce sont en effet les tissus résistants aux réinoculations d'*Agrobacterium tumefaciens*

tanins totaux
virulent qui ont l'indice $\frac{\text{tanins totaux}}{\text{azote total}}$ le plus élevé.

J'ai été ainsi amené à parler d'immunité par défaut car, l'azote total représentant d'une part la quantité de substances azotées et d'autre part la quantité des substances fondamentales des cellules, cette déficience en azote des régions résistantes rend la tumorigénèse difficile et d'autant plus que la teneur relativement élevée en tanins favorise la cicatrization des points de réinoculation. En somme, la tumeur se trouve en culture sur le rameau et les exigences métaboliques correspondant à l'intense prolifération tumorale sont telles que les tissus voisins se trouvent carencés en métabolites et, comparativement, enrichis en facteurs de cicatrization. *Le Crown-gall est un parasite en soi et l'immunité qui se développe*

est une immunité anti-Crown-gall (anti-tumeur) et non une immunité anti-Agrobacterium tumefaciens, parasite primaire. Cette immunité revêt ainsi des caractères d'ordre essentiellement trophique, encore qu'elle puisse être accessoirement associée au développement d'un bactériophage anti-tumefaciens découvert par d'HERELLE et PEYRE (1927) et dont l'existence a été confirmée par de nombreux auteurs dont nous-même (RYBAK, LEPINE et CROISSANT; 1948) et BEARDSLEY (1955).

RESUMEN

El cáncer de las Plantas o « Crown-gall » (agalla de la corona) es una enfermedad tumoral provocada por un agente bacteriano *Agrobacterium tumefaciens*, descubierto por E.-F. SMITH (1905) y que no afecta más que los Dicotiledones, o que demuestra la existencia de una inmunidad natural en los Monocotiledones; ARNAUDI (1925) descubrió que de parte y otra de un tumor caulinar de *Pelargonium zonale*, unas reinoculaciones del agente bacteriano potógeno avortan, lo que caracteriza un fenómeno de inmunidad contra la reinfección. Pude demostrar (1946-1954) que, en tal fenómeno, no se puede evidenciar anticuerpos y que las reacciones de aglutinación de *Agrobacterium tumefaciens* o de precipitación de sus extractos por los jugos de *Pelargonium zonale* se debían esencialmente: 1) a los taninos de la Planta; 2) a la formación de amasijos bacterianos de cultivo. Tales hechos se confirmaron especialmente en las Tesis de MASSIGNON (1951) y de BENE (1958). Así, en este caso preciso en que nos encontramos con seres vivos poikilotérmicos con reacciones antiinfecciosas no especializadas, la inmunidad se caracteriza especialmente — como entre los animales poikiloterms — por una incapacidad de producir anticuerpos. De hecho la inmunidad adquirida en el Crown-gall se expresa por un fenómeno de « tierra quemada »: efectivamente son los tejidos resistentes a las reinoculaciones de *Agrobacterium tumefaciens* virulento que tienen el índice de *taninos locales* ozota total más elevado. Ello me llevó a hablar de *inmudidad por falta* porque el ázoe total presentando de un lado la cantidad de substancias fundamentales de las células, esta deficiencia en ázoe de las regiones resistentes hace la tumorización difícil y más según el tenor relativamente elevado en taninos que favorece la cicatrización de los puntos de reinoculación. Total el tumor se encuentra cultivado en la rama y sus exigencias metabólicas correspondiendo a la intensa proliferación tumoral son tales que los tejidos vecinos carecen de metabolitis y, comparativamente, se enriquecen con factores de cicatrización. *El Crown-gall es un parásito en sí y la inmunidad que se desarrolla es una inmunidad anti-Crown-gall (anti-tumor) y con una inmunidad anti-agrobacterium tumefaciens (parásito primario).* Esa inmunidad reviste de este modo caracteres de orden esencialmente *trófico*, aunque acesoriamente se puede asociar con el desarrollo de un bacteriófago anti-tumefaciens descubriólo por d'HERELLE y PEYRE

(1927) y cuya existencia confirmaron numerosos autores, entre los cuales nosotros mismos (RYBAK, LEPINE y CROISSANT : 1948) y BEARDSLEY (1955)

SUMMARY

Acquired immunity (response of plant tissues) to inoculation with *Agrobacterium tumefaciens*. Immunity is of a trophic type, involving the response (Crown-gall) rather than the bacterial agent.